

간섬유화

연세대학교 의과대학 내과학교실

이 관 식

Hepatic Fibrogenesis

Kwan Sik Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine

In acute injury, liver recovers completely without any scarring change or complication. However, large portion of liver is changed into fibrotic state by excessive production of extracellular matrix (ECM) under chronic injury. Excessive production of ECM results in hepatic fibrosis and repeated process of hepatic fibrosis progress into liver cirrhosis. Liver cirrhosis is an irreversible and terminal state of chronic liver disease and one of the major causes of death in Korea. To block the progression to liver cirrhosis, various studies in the field of virology and immunology have been proceeded. Recently, studies on the hepatic fibrogenesis have progressed with the development of molecular biology. Hepatic stellate cells (HSC) play a key role in the pathogenesis of hepatic fibrosis by producing ECM. The degree of hepatic fibrosis depends on the proliferation and activation of HSC and increased net production of collagen. Therefore, inhibition of HSC activation is one of the main ways to block the progression of hepatic fibrosis. Many kinds of factors such as oxidative stress, acetaldehyde, ascorbic acid, transforming growth factor-beta (TGF- β) and carbon tetrachloride (CCl₄) have been reported to activate HSC and stimulate collagen gene expression. Although there are no definite and effective antifibrogenic agents, possible candidates are antioxidants, interferon, retinoids such as β -carotene, flavonoids, renin-angiotensin system inhibitors and peroxisome proliferator activated receptor-gamma (PPAR-gamma) agonists. We tried to evaluate the characteristics of HSC in order to develop agents that inhibit hepatic fibrogenesis. (**Korean J Gastroenterol 2006;48:297-305**)

Key Words: Hepatic fibrogenesis; Hepatic stellate cell; Collagen; Antifibrogenic agent

서 론

만성 간질환은 국내에서 성인병 및 사망의 중요한 원인이므로 이 질환의 병인 규명, 예방과 치료 등에 대한 연구가 매우 중요하다. 또한 만성 간질환의 예후에 중요한 여러 합병증과 간암 등이 간경변으로 진행된 이후에 발생하는 경우가 대부분이므로 만성 간염에서 간경변으로의 진행을 막는

것은 간질환의 주요 원인인 B형 또는 C형 간염 바이러스에 의한 만성 간질환 치료의 궁극적인 목표 중의 하나이다.

여러 원인에 의해 지속되는 간섬유증(hepatic fibrosis) 과정을 거쳐 간경변이 유발되므로 간섬유화 과정을 이해하고 연구하는 것은 간경변 유발 질환을 해결하는 데 가장 기본적인 단계이다.

연락처: 이관식, 135-270, 서울시 강남구 도곡동 146-92
연세대학교 의과대학 영동세브란스병원 소화기내과
Tel: (02) 2019-3314, Fax: (02) 3463-3882
E-mail: leeks519@yumc.yonsei.ac.kr

Correspondence to: Kwan Sik Lee, M.D.
Department of Internal Medicine, Yongdong Severance Hospital
Yonsei University College of Medicine, 146-92, Dogok-dong
Gangnam-gu, Seoul 135-270, Korea
Tel: +82-2-2019-3314, Fax: +82-2-3463-3882
E-mail: leeks519@yumc.yonsei.ac.kr

간섬유화의 정의

여러 원인으로 간세포가 손상되면 간성상세포(hepatic stellate cell)와 쿠퍼세포(Kupffer cell) 등의 상호작용에 의해 각종 사이토카인과 활성 산소 등이 생성되고, 이로 인해 활성화된 간성상세포는 세포외기질(extracellular matrix, ECM)을 생산한다. 이러한 섬유생성(fibrogenesis) 과정으로 생산된 ECM은 간세포가 파괴되어 생긴 빈 공간을 채워서 간 형태를 유지하는 역할을 한다. 급성 간질환에서는 파괴된 공간을 간세포가 다시 재생하여 채워감에 따라 더 이상의 ECM 역할이 필요치 않아서 ECM을 파괴하는 섬유용해(fibrosis) 과정이 활발하게 일어나 정상 간으로 회복한다. 그러나 만성 간질환에서는 간세포가 지속적으로 파괴되어, 섬유용해 과정에 비해 상대적으로 섬유생성 과정이 과도하게 지속됨에 따라 ECM이 이상 증식되어 간섬유증으로 진행된다.

일반적으로 간섬유증은 가역적이고, thin fibril로 구성되며 결절 형성이 없고 간손상 원인이 소실되면 정상 회복이 가능하나, 간섬유증 과정이 반복적으로 지속되면 ECM 간의 교차결합(crosslinking)이 증가하여 thick fibril을 형성하고 결절이 있는 간경변으로 진행된다.

ECM은 교원질(collagen), 당단백질(glycoprotein), 프로테오글라이칸(proteoglycan) 등으로 구성된다. 이 중 특히 교원질 증가는 간섬유증의 중요한 원인이 되고 교원질은 여러 원인에 의해 활성화된 간성상세포가 주로 생산한다.

간섬유화 과정에서 세포는 각종 기질과 매개물질을 생성하고, 기질과 매개물질은 상호작용하여 세포를 조절한다. 따라서 ECM에 대한 연구,¹⁻⁷ 이에 관여하는 각종 세포 간의 관계, 세포 활성화 기전, 사이토카인, 항섬유화제(antifibrogenic agents)에 대한 연구 등이 여러가지 방면으로 활발히 진행되고 있고, 연구 목표는 ECM 생산을 저하시켜 간경변 진행을 억제하는 것이다.

세포외기질

정상 간조직의 ECM은 기저막(basement membrane) ECM과 간질 ECM으로 구분하는데 간세포와 동모양혈관내피세포(sinusoidal endothelial cell) 사이의 덧제강(space of Disse)을 구성하고 있는 기저막 ECM은 주로 4형 교원질, laminin, heparan sulfate proteoglycan 등으로 이루어져 있고, 간질 ECM은 주로 1, 3형 교원질과 fibronectin, undulin 등으로 구성되고 문맥부위와 간소엽에 분포하며 간조직을 구조적으로 유지하는 역할을 한다.⁸

ECM은 이러한 구조지지 역할 이외에도 각종 매개물질

Table 1. Types of Collagen Composition

Type	
Fibril-forming collagens	: I, II, III, V, XI
Fibril-associated collagens	: IX, XII, XIV, XVI, XIX
Sheet-forming collagens	: IV, VIII, X
Beaded filament-forming collagen	: VI
Anchoring fibril-forming collagen	: VII

활성화에 관여하고, 여러 세포와 다양한 integrin을 통한 결합을 통해 세포 활성화를 조절한다.

1. 교원질

교원질은 현재 1형부터 19형까지 알려져 있고 1, 2, 3, 5, 11형 등과 같은 banded 또는 fibril forming type과 4, 6, 7, 8, 9, 10형 등과 같은 non-banded 또는 non-fibril forming type으로 구분하며 이를 세분하면 Table 1과 같다.¹⁴ 간과 연관된 것은 1, 3, 4, 5, 6형이다. 정상 간에서는 1형과 3형이 각각 전체 교원질의 40-45%로 대부분을 차지하고 주로 문맥주위부에 다발(bundle) 형태로 분포하며, 4형은 약 7%로 기저막 부위에 저밀도 기질(low density matrix) 형태로 분포하고 5형은 5-10%로 간소엽 부위에 분포한다. 정상 간의 교원질은 전체 무게의 약 0.5%이고 1형과 3형의 비율이 거의 같으나, 간경변에서는 10배 이상으로 증가하고 1형과 3형의 비율이 약 4:1로 주로 1형이 많이 증가한다. 이는 피부의 상처 치유에서 초기에는 주로 3형이 증가하나 후기 반흔 형성 때에는 1형이 대부분을 차지하는 것으로 보아 간경변도 같은 맥락으로 이해할 수 있다.

간섬유증은 결국 간내 교원질 증가로 유발되는데 이는 여러 인자에 의한 교원질 유전자의 자극으로 교원질 생산이 증가하거나, 교원질을 분해시키는 collagenase 감소 등으로 유발되고, 교원질을 생산하는 세포 수 증가도 중요한 원인이다.

교원질 유전자를 자극시키는 물질은 알코올 대사물질인 아세트알데하이드, 실험동물에 사염화탄소 등을 투여하였을 때 검출되는 섬유화 인자(fibrogenic factor), 아스코르빈산, 지질과산화의 산물인 malondialdehyde와 4-hydroxynonenal, 전환 성장인자-β₁ (transforming growth factor-β₁, TGF-β₁) 등이 대표적이고 이외에도 여러 물질이 있다(Table 2). 교원질 유전자를 억제시키는 물질은 cAMP, 당질코르티코이드, 인터페론, 프로스타글란딘 및 레티노이드 등이 있다(Table 3).

교원질 유전자가 자극되면 전사율이 증가하여 전구교원질전령리보핵산(procollagen mRNA)이 형성되고 전구교원질

Table 2. Positive Effectors of Collagen Gene Expression

Effectors	Collagen types	Cell or tissue type
Ascorbate	I, III	Fibroblasts
Acetaldehyde	I, III	Fibroblasts
Bleomycin	I, III	Lung
Carbon tetrachloride	I, III	Liver
Dimethylnitrosamine	I, III	Liver
Estradiol	I, III	Uterus
Ethanol	I	Liver
Hepatic fibrogenic factor	I, III	Fibroblasts
Hepatitis virus	I	Liver
Indomethacin	I, III	Synovial cells
Insulin	I, III	Fibroblasts
Insulin-like growth factor	I, III	Fibroblasts
Interleukin-1	I, III	Fibroblasts
	I, III	Synovial cells
Leukotriene C ₄	I, III	Fibroblasts
Malondialdehyde	I, III	Fibroblasts
Schistosoma mansoni	I	Liver
Thioacetamide	I, III	Fibroblasts
Transforming growth factor- β	I, III	Fibroblasts
	I, III	Hepatic lipocytes
Tumor necrosis factor- α	I, III	Fibroblasts
	I, III	Adipocytes

형성이 증가한다. 이는 α chain이라 하며 각각의 chain은 lysyl과 prolyl residues의 hydroxylation과 hydroxyl lysyl residues의 glycosylation 등의 posttranslation 변형을 거친 후 비공유결합 상태인 triple helix를 형성한다. 이는 미세소관을 통해 세포 외로 분비되거나 세포 내에서 collagenase에 의해 분해된다. 세포 외로 분비된 전구교원질은 펩티드의 분할 후 교원질이 되고 lysyl oxidase에 의해 lysine과 hydroxylysine side chain이 aldehydes를 형성하며 이 aldehydes 간의 결합, 즉 triple helix 간의 공유결합을 이루는 교환결합과정을 거쳐 원섬유(fibril)를 형성한다. 일반적으로 triple helix를 이루는 교원질 molecule 5개가 모여 한 단위의 microfibril을 이루고 이후 lateral과 end to end 응집(aggregation)을 통해 교원질 섬유를 형성하고^{9,10} 이는 ECM의 주 성분으로 작용하거나 collagenase 등에 의해 분해된다.¹¹

섬유용해 과정에서 기질을 분해시키는 물질을 총칭하여 matrix metalloprotease (MMP) 군이라 하고 이는 대상 기질에 따라 3가지로 분류한다. 1, 3형 교원질을 분해하는 간질 collagenase (MMP 1, 5), 당단백질과 프로테오글라이칸을 주로 분해하는 stromelysin (MMP 3, 10), 4형 교원질을 분해하는 4형 collagenase (MMP 2, 9) 등이 있고 주로 간성상세포와 쿠퍼세포에서 생성된다. 간섬유화 때에는 이들의 생성이

Table 3. Negative Effectors of Collagen Gene Expression

Effectors	Collagen types	Cell or tissue type
Dibutyl cAMP	I, III	Fibroblasts
Epidermal growth factor	I, III	Kidney epithelioid cells
Estradiol	I, III	Aorta smooth-muscle cells
Glucocorticoid	I	Fibroblasts
	I	Liver, hepatocytes
Interferon	I, III	Fibroblasts
	I, III	Liver
Prostaglandin	I, III	Synovial cells
	I, III	Fibroblasts
	I, III	Fibroblasts
Relaxin	I, III	Fibroblasts
Retinoid	I, III	Preadipocytes
Tumor necrosis factor- α	I, III	Fibroblasts
	I	Preadipocytes
Tumor promoter	I	Fibroblasts
	I	Epidermal cells
Tumor virus	I, III	Fibroblasts
Vasopressin	I	Hepatocytes

감소하거나, 억제물질인 α_2 -macroglobulin과 tissue inhibitors of metalloprotease (TIMP) 등이 활성화된 간성상세포에서 생성되고 교원질 분해가 감소하여 결국 교원질이 증가한다.

2. 당단백질

당단백질은⁵⁻⁷ 주로 교원질과 세포를 부착시키고, 각종 세포 기능을 조절한다. Fibronectin, laminin, vitronectin, tenascin, undulin, thrombospondin, osteonectin, elastin 및 nidogen (entactin) 등이 알려져 있다.

1) Fibronectin

Fibronectin은 450 kD의 당단백질로 혈장단백 또는 세포 fibronectin 상태로 존재한다. 세포 fibronectin은 교원질을 세포에 부착시키는 역할 이외에 ECM 형성에 관여하고 collagenase와 결합하여 기능을 억제하며, 세포 이동과 염증세포에 대한 화학주성인자(chemoattractant)의 기능을 갖고 있다. 또한 혈장 fibronectin 역시 응고, opsonization과 조직재생 등에 관여한다.

Fibronectin 수용체는 integrin 군 중 하나이고 vitronectin, fibrinogen, laminin, thrombospondin 등과 결합하며 2개의 subunit, 즉 α 와 β transmembrane heterodimer을 구성한다($\alpha_5\beta_1$).¹² Integrin chain의 세포질 내 구성물질로는 vinculin, talin, fibulin 등이 알려져 있고 tenascin은 fibronectin과 경쟁하여 세포와의 부착을 방해한다.

Fibronectin은 간성상세포, 간세포 및 동모양혈관내피세포

등에서 생성되고 간경변에서는 주로 문맥주위부에서 증가되고 용해 형태보다는 세포 형태가 증가한다.

2) Laminin

Laminin은 lace와 같은 격자구조를 하고 있고 다른 ECM을 고정시키는 역할을 하는데 특히 4형 교원질, nidogen, perlecan 등과 함께 기저막을 형성한다. Nidogen은 laminin 격자와 섞여 짝뚱한 4형 교원질 sheet를 연결시켜 주고 perlecan은 laminin에 부착되어 있는 형태를 하고 있다. 또한 Englebreth-Holm-Swarm (EHS) mouse tumor에서 쉽게 분리하여 여러 실험에 이용한다.

세포의 부착, 이동, 면역복합체의 침착, 탐식작용(phagocytosis)을 증가시키며 내피세포의 분화에도 관여한다. 간성상세포 등에서 생성되고, 손상받은 간이나 재생 중인 간에서 주로 증가하고 간섬유화 때에도 증가한다.¹³

3. 프로테오글라이칸(Proteoglycan, PG)

PG는 중심단백질에 부착되어 있는 여러 형태의 glycosaminoglycan (GAG) 사슬로 이루어져 있는 물질로서 GAG 성분에 따라 heparan sulfate, dermatan sulfate, chondroitin sulfate 및 keratan sulfate 등과 nonsulfated hyaluronic acid 등으로 분류한다. 정상 간에서는 heparan sulfate가 60% 이상 차지하고 있으나 만성 간질환에서는 dermatan sulfate와 chondroitin sulfate가 증가하고 heparan sulfate는 상대적으로 50% 이하로 감소한다. 간경변에서는 GAG가 약 5배 이상으로 증가한다. 간성상세포 등이 생산하고 decorin, intracellular PG serglycan (dermatan/chondroitin sulfate), basement membrane PG perlecan (heparan sulfate), interstitial PG versican (dermatan/chondroitin sulfate), transmembrane PG syndecan (heparan/chondroitin sulfate), biglycan 등이 알려져 있다.

세 포

정상 간에서는 간세포, 동모양혈관내피세포, 간성상세포 등이 ECM을 생산하지만, 간손상 후에는 주로 활성화된 간성상세포가 ECM을 생산한다. 각종 세포의 활성화 기전, 세포-세포 또는 세포-ECM 간의 상호작용에 대해 많은 연구가 진행되고 있다.

1. 간성상세포

간성상세포는 1876년 Kupffer가 발견하였고, Ito가 기술하였으며 1971년 Wake¹⁴가 정립하였다. 동모양혈관내피세포와 간세포 사이의 덧제강에 위치한 세포로서 별모양을 하고 있어서 간성상세포, Ito 세포라 불리우며 또한 비타민 A를 함유하고 있는 지방소적(lipid droplet)을 갖고 있어서 vitamin

A storing cell, fat storing cell 또는 perisinusoidal hepatic lipocyte 등으로 불리운다.

정상에서는 3, 4형 교원질과 laminin 등을 생성하고 1형 교원질은 거의 생성하지 않으나, 손상받은 간세포나 쿠퍼세포 등에서 분비된 여러 사이토카인이나 산화스트레스 등에 의해 자극을 받으면 platelet derived growth factor (PDGF)와 TGF- β 의 수용체가 발현하고, 이와 더불어 4형 collagenase를 분비하여 세포 주변을 둘러싸고 있는 기저막을 손상시킨다. 일반적으로 기저막 ECM은 간성상세포의 증식과 활성화를 억제하므로 이런 기저막의 손상은 간성상세포를 활성화시킨다. 활성화된 간성상세포는 각종 성장인자에 대한 반응을 증가시키고 1형 교원질 등의 ECM 생성을 증가시키며 생성된 1형 교원질은 간성상세포를 더욱 활성화시킨다.

이외에도 collagenase의 억제물질인 α_2 -macroglobulin과 TIMP 등의 생성도 증가시켜 결국 간섬유화의 중심 역할을 한다. 또한 초기에 손상된 기저막은 1형 교원질과 fibronectin 등으로 대체되고, 이로 인하여 동모양혈관과 간세포와의 물질교환이 원활치 않아 간세포 기능이 저하된다.¹⁵

활성화한 간성상세포는 근섬유모세포(myofibroblast) 형태의 세포로 변화하여 알파평활근액틴(α -smooth muscle actin)과 같은 세포골격제사(cytoskeletal filament) 등을 생산하고 비타민 A를 함유하고 있는 지방소적이 감소 또는 소실되며 비후된 거친면세포질내세망(rough endoplasmic reticulum) 소견을 보인다. 이와 관련하여 중심정맥 주변의 섬유화는 간성상세포가, 문맥 주변의 섬유화는 문맥근섬유모세포(portal myofibroblast)가 담당한다는 보고도 있다. 그러나 문맥근섬유모세포가 문맥 주변으로 이동한 간성상세포인지, 별개의 세포인지에 대해서는 논란이 있다.

간성상세포 증식에 관여하는 인자는 Table 4와 같다. 이외에도 앞서 언급했듯이 ECM의 변화, 즉 정상 ECM의 파괴 및 1형 교원질과 fibronectin의 증가, TGF- β 발현 및 철분과 알코올에 의한 산화스트레스 등은 간성상세포 활성화의 중요한 인자들이다.

Table 4. Cytokines Related with the Proliferation of Hepatic Stellate Cells

Platelet derived growth factor
Transforming growth factor- α
Epidermal growth factor
Insulin like growth factor
Heparin binding growth factor
Hepatic fibrogenic factor induced by CCl ₄
Hepatocytes conditioned media
Kupffer cells conditioned media

2. 간세포

손상을 받은 간세포는 쿠퍼세포에 의해 식작용되고, 활성화된 쿠퍼세포는 각종 사이토카인을 분비하여 간성상세포를 활성화시킨다는 것이 일반적인 간섬유화 기전의 하나인데 손상받은 간세포가 직접 간성상세포를 활성화시킨다는 보고도 있다. 즉 여러 원인에 의해 간세포가 손상을 받아 세포사멸이 일어나면 TGF- β_1 가 발현하고 이로 인해 간성상세포가 활성화되며, 활성화된 간성상세포에 의해 TGF- β_1 이 다시 발현하여 간세포의 사멸을 더욱 유발하는 악순환이 진행될 수 있다. 또한 간세포와 간성상세포를 동시 배양하여 사염화탄소로 처리한 경우에 간세포와 인접한 부위의 간성상세포에만 교원질 유전자가 발현한 것을 보아 간세포가 직접 작용한다는 것을 추정할 수 있고,¹⁶ 동시 배양시 0.2% fetal calf serum 정도로 공급을 제한하더라도 간성상세포가 정상적으로 증식하는 것을 관찰하였는데 이는 간세포에서 분비되는 insulin-like growth factor-1 (IGF-I)에 의한 결과다.¹⁷

간세포가 ECM을 생성하는 주세포라는 설도 있으나,¹⁸ 그 보다는 간성상세포가 ECM 생산의 핵심세포이고,^{19,20} 이를 활성화하는데 간세포가 영향을 미친다는 것이²¹ 정설이다.

3. 쿠퍼세포

쿠퍼세포는 숙주 면역 방어에서 중요한 역할을 하고, 손상 받은 간세포를 식작용하여 활성화하면 interleukin-1 (IL-1), IL-6, PDGF, TNF- α , TGF- β_1 , type IV collagenase 등을 분비하여 간섬유화에 관여한다.

4. 동모양혈관내피세포

동모양혈관내피세포는 정상 간에서는 창(fenestrae)이 있어 기저막 및 간세포와 혈관이 통해 있지만 간섬유화가 진행되면 창이 수가 감소되어 혈관의 모세혈관화가 유발되고 간세포 손상이 진행할 수 있다. 이 과정에는 nonsulfated PG hyaluronic acid의 증가가 관여한다.

사이토카인

1. TGF- β_1

TGF- β_1 는 25 kD의 물질로서^{22,23} latent TGF- β_1 binding protein과 결합하여 inactive latent 형태로 분비되고 1, 4형 교원질, laminin, decorin 등의 ECM과 결합한 상태로 존재하며 여러가지 자극에 의해 활성화된다.

쿠퍼세포, 활성화된 간성상세포, 동모양혈관내피세포, 간세포 및 혈소판 등이 생산하고 간섬유화과정에 중요한 역할을 한다. 즉 교원질, 당단백질, 프로테오글라이칸 등의 ECM

mRNA를 증가시키고 간성상세포에서 TGF- β_1 생산을 자동 자극(autostimulation)하여 증가시킨다.

또한 collagenase 생산을 감소하거나, collagenase 억제물질 생산을 증가하여 교원질을 증가시키고 단핵구나 대식세포에서 종양괴사인자(tumor necrosis factor- α , TNF- α), IL-1과 PDGF 등의 생산을 증가시키며 간성상세포에 대한 PDGF의 효과를 강화한다.

바이러스나 schistosomiasis 등에 의한 염증 병변과 사염화탄소 등의 독작용에 의한 병변 때 모두 증가하고, 특히 바이러스 만성간염에서 인터페론 투여 후에 TGF- β_1 치가 감소하였다.²⁴

TGF- β_2 는 주로 담도와 관련이 있고 TGF- α 는 간재생 때 간세포 증식과 간섬유화에서 간성상세포 증식에 관여한다.

2. PDGF

PDGF는 30 kD의 물질로서²⁵ AA, AB, BB form이 있고 170-180 kD의 수용체($\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$)와 결합한다. PDGF는 간성상세포의 가장 강력한 증식인자로 쿠퍼세포, 혈소판, 동모양혈관내피세포, 평활근세포 등에서 생산되며 fibronectin과 PG 생산을 증가시킨다. 또한 대식세포의 활성화를 통해 염증반응을 진행시킨다.

3. TNF- α

TNF- α 는 단핵구나 대식세포에서 생산되고 IL-1과 세포 집락자극인자(colony stimulating factor, CSF) 생산을 증가시켜 면역 염증반응을 유발한다.²⁶ 간성상세포의 증식을 자극하나 교원질 유전자의 전사에 대해서는 아직 논란이 많고 collagenase와 PG 생산을 증가시킨다.

4. IL-1

IL-1은 단핵구나 대식세포에서 생산되고 CSF 생산을 증가시켜 대식세포 스스로의 활성화를 돕는다. TGF- β_1 의 생산

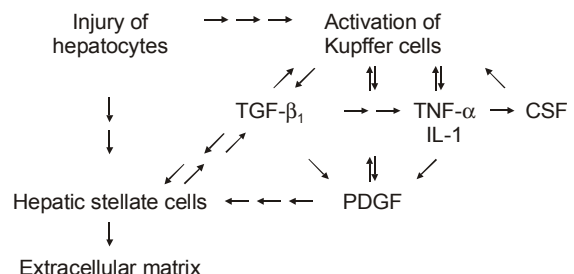


Fig. 1. Interrelation between cells and cytokines in extracellular matrix production.

TGF, transforming growth factor; TNF, tumor necrosis factor; CSF, colony stimulating factor; IL, interleukin; PDGF, platelet derived growth factor.

Table 5. Oxidative Stress

The offender	The defender
1. Oxygen free radical; superoxide, singlet O_2 , H_2O_2 , $OH\cdot$, organic hydroperoxide	1. Enzymatic antioxidants; SOD, catalase, GSH peroxidase
2. Phagocytes; NADPH oxidase, myeloperoxidase, hydrochlorous acid, N-chloramines	2. Soluble antioxidants; GSH, uric acid, albumin, haptoglobin/hemopexin
3. Oxidants; iron, copper, pollutants	3. Nutritional antioxidants; vitamin E, β -carotene, selenium
	4. Transition metal sequestrants; transferrin, lactoferrin, ferritin, ceruloplasmin

SOD, superoxide dismutase; GSH, glutathione; NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

을 자극하고 교원질 유전자의 전사를 증가시키며 TIMP 생산을 증가시켜 결국 교원질이 증가한다.

5. CSF

CSF는 생산하는 세포에 따라 granulocyte macrophage CSF (GM-CSF), G-CSF, M-CSF 등으로 분류한다. TNF- α 나 IL-1 등에 의해 생산이 증가된 CSF는 대식세포를 활성화시켜 각종 사이토카인의 분비를 촉진시킨다. 이러한 여러 사이토카인의 상호관계를 정리하면 Fig. 1과 같다.

산화스트레스^{16,27,28}

유리잔기(free radical)는 외부케도에 쌍을 이루지 못한 전자를 갖고 있기 때문에 다른 물질로부터 전자를 빼앗아 스스로 안정화하는 성질이 있다. 이에 반해 항산화제는 유리잔기의 생산을 감소시키거나 유리잔기와 결합하여 제거한다. 이러한 유리잔기의 생산과 제거에 불균형이 와서 유리잔기가 많아질 때 세포나 조직은 산화스트레스를 받게 된다. 산화스트레스에 대한 공격인자와 방어인자를 나열하였다(Table 5).

여러 원인으로 생산된 과산화수소(H_2O_2)는 환원된 철이나 구리 이온과 산소잔기(oxygen radical)의 도움을 받아 히드록실잔기(hydroxyl radical)를 형성한다. 이는 세포막에 있는 다불포화지방산(polyunsaturated fatty acid)과 결합하여 지질과 산화를 이루고 대사물질인 malondialdehyde나 4-hydroxynonenal 등은 세포 내 단백질이나 DNA와 결합하여 손상을 주고 일부 유전자의 전사율을 증가시킨다.

간성상세포가 여러 원인에 의해 산화스트레스를 받으면 교원질 유전자의 전사율이 증가하므로 산화스트레스는 간섬유화의 중요한 원인 중 하나이다. 또한 c-myc 또는 NF- κ B 등의 전사인자가 간성상세포 활성화에 관여한다.²⁹

기타 물질

1. 혈관확장제와 혈관수축제

Nitric oxide와 relaxin 등의 혈관확장제는 항섬유 효과가 있고, norepinephrine, angiotensin II 및 endothelin-1 등의 혈관수축제는 간섬유화를 유발한다. 이 중 angiotensin II는 renin-angiotensin 과정에 관여하는데, 이 과정을 억제하면 섬유화도 호전된다. 또한 angiotensin II는 염증 사이토카인의 분비를 촉진시켜서 간의 염증 유발에도 관여하여 간성상세포를 활성화시키고, 이 과정에 NADPH oxidase에 의한 radical oxygen species (ROS)의 생산이 관여한다. 따라서 현재 시판되고 있는 angiotensin II receptor blocker 등이 항섬유화제로서의 가능성이 있다.

2. Adipokines

비만환자의 지방세포는 ob 유전자를 통해 leptin을 분비하고, leptin은 시상하부에 작용하여 식욕과 체중증가에 관여하는 anabolic substances 분비를 감소시키고, 식욕을 억제하는 catabolic substances를 증가시켜 결국 체중을 줄이려는 노력을 하게 된다. Leptin은 간성상세포 활성화에 관여하고 간성상세포에도 표현되는 것으로 알려져 있는데, 만성 C형간염 환자에서 비만이 간섬유화의 진행을 유발하는 기전은 leptin에 의한 것으로 설명하고 있고 비알코올지방간염의 섬유화 과정에도 관여한다. Leptin은 동모양혈관내피세포에서 TGF- β 를 증가시키거나, 간성상세포를 직접 활성화시킨다.

또한 PPAR- γ ligand인 thiazolidinedione 제제는 비만 세포에서 leptin 발현을 억제하는 것으로 알려져 있는데, 간성상세포가 활성화하면 leptin 표현이 증가하고 PPAR- γ ligand가 이를 억제하여 간섬유화를 억제할 가능성이 있다. Adiponectin도 섬유화를 억제하는 물질로 알려져 있다.

3. Cyclooxygenase 2 (COX-2)

간성상세포의 활성화 과정에 COX-2가 발현하는 것은 COX-2-prostanoids 신호전달 계통이 간성상세포의 섬유화 과정에 관여함을 시사한다. 항섬유화제로서 COX-2 억제제 역할에 대해서는 아직 논란이 있으며 이에 대한 연구가 진행 중이다.

간섬유증 진단

간섬유증 진단은 간생검이 가장 확실한 방법으로 알려져 있지만 간생검 부위와 간조직 크기 등에 따라 진단이 정확하지 않을 수 있고, 앞서 언급한 바와 같이 간섬유화는 섬유생성과 섬유용해가 지속되는 동적인 상태인데, 간생검은 한 시점의 정적인 섬유증 정도만 보여주기에 때문에 한계가 있다. 더구나 침습적인 방법이므로 반복 시행하기 곤란하다.

이에 비침습적인 방법, 즉 fibroscan을 이용한 영상학적인 방법이나, 혈청 검사 등을 시도하고 있다. Fibroscan은 조직의 딱딱한 정도(elasticity)에 따라 초음파가 전달되는 속도가 다른 점에 착안하여 개발한 방법으로서, 간의 4 부위 정도에서 각각 측정된 elasticity의 평균을 숫자로 환산한 값으로 간섬유화 정도를 측정한다. 간생검 및 혈청학적 검사와 비교하여 유사하다는 연구가 있고, 근래 국내에서도 시행하고 있다.

혈청 검사는 AST, ALT, 혈소판, 프로트롬빈 타임, γ -GT, α 2-macroglobulin, apolipoprotein A1 등의 요소를 각각 조합하여 만든 여러 가지 검사의 간접 표지자와 1, 3, 4형 교원질과 같은 ECM 또는 이의 대사물, 섬유용해와 관련된 MMP와 TIMP, 이와 관련된 사이토카인 등과 같은 직접 표지자가 있다. 혈청 검사만으로는 한계가 있고, 영상적인 방법 등을 같이 시행하여 정확도를 높일 수 있다.

치 료

간섬유증은 가역적인 단계로서 지속적인 간섬유화 과정을 억제하면 회복할 수 있고, 근래에는 비가역적인 단계로 알려진 간경변도 항섬유화제로 회복되었다는 실험 보고도 있다. 아직 뚜렷한 효과가 있는 치료제가 개발되지 않았으나 간조직의 염증반응을 유발하는 원인을 제거, 간성상세포 활성화 억제 및 교원질 생산과정의 방해 또는 파괴 증가 등의 세 가지 방향으로 연구가 진행되고 있다.

1. 원인 제거

B형 또는 C형 간염 바이러스와 알코올 등의 간염 및 간섬유화를 유발하는 근본적인 원인 제거가 가장 중요하다. 즉 만성 B형 또는 C형 간염에서 효과가 있을 것으로 판단되는 환자는 적극적인 항바이러스제 투여가 필요하고, 알코올 간질환은 적극적인 교육과 정신과 치료를 병행하여 금주하도록 한다. 근래 간경변의 새로운 원인으로 인식하고 있는 지방간염의 원인인 당뇨병, 비만 및 식생활 습관 등의 치료와 개선에도 노력해야 한다.

2. 간성상세포 활성화 억제

1) 레티노이드

활성화한 간성상세포는 세포 내 레티노이드를 함유하고 있는 지방소적이 감소 또는 소실된다. 쿠퍼세포 배양액을 간성상세포에 처치하면 간성상세포는 활성화하고 간성상세포 배양액에서 레티놀이 검출된다.³⁰ 반대로 간성상세포 배양시 레티노이드를 첨가하면 PDGF에 대한 반응이 감소하는 것으로 보아³¹ 레티노이드는 간성상세포 활성화를 억제할 수 있을 것으로 생각하나 레티노이드 자체에 의한 간독성이 있으므로 실제 사용에는 더 많은 연구가 필요하다. 비타민 A의 전구물질인 β -carotene은 유사한 효과를 보이고, 부작용도 적을 것으로 보여 추후 실제 사용이 가능할 것으로 기대한다.

2) 항산화제

산화스트레스로 인한 지질과산화가 간성상세포에서 교원질 유전자를 자극하므로³² 대표적인 항산화제인 비타민 E 등은 이를 억제할 수 있다.³³ Pentoxifylline도 항산화제로서³⁴ 간성상세포 활성화를 억제하고, 베타 카로틴이나 플라보노이드 등도 항산화작용이 있으므로 항섬유화 효과가 있을 것으로 기대한다.

3) 인터페론

인터페론은 간성상세포의 증식을 억제하고 교원질 mRNA의 안정성을 감소시키며, 감마 인터페론이 알파 인터페론보다 더 강한 효과를 보인다. 또한 prostaglandin E₂ (PGE₂)나 TNF- α 등과 병합투여하여 교원질 생산감소에 상승작용을 나타낼 수 있다. 감마 인터페론은 임상적으로 사용하기가 어려우나, 알파 인터페론은 현재 만성 B형간염과 C형간염에 사용하고 있으므로 항바이러스 효과와 함께 항섬유화 효과도 얻을 수 있다.

4) 기타

앞서 언급한 angiotensin II receptor blocker, PPAR-gamma

agonist, COX 2 억제제 등은 이미 타 질환에서 사용 중인 검증된 약물이므로 간섬유화에 대한 임상시험이 확인되면 실제 사용할 수 있을 것으로 기대한다.

3. 교원질 생성 억제

1) 유전자 치료

아직까지는 실험실 단계를 벗어나지 못하고 있으나 ECM 또는 사이토카인 등에 대한 antisense mRNA를 투여하여, 섬유화과정에서 이미 생산된 sense mRNA와 결합하여 파괴시키는 방법이 있고 교원질, fibronectin, TGF- β 등에 대한 antisense mRNA 등을 고려하고 있다.

또한 교원질 유전자의 전사를 억제하는 인자에 대한 DNA를 asialoglycoprotein 등과 결합시켜 수용체세포내이입(receptor mediated endocytosis)을 이용하거나 세포배양 때 retrovirus를 통해 세포 내로 이입시켜 교원질 유전자를 억제할 수 있다. 세포 외에서 교원질 형성 시 분할된 전구펩티드에 대한 DNA 등을 고려하고 있다.

2) 당질코르티코이드

일반적으로 간의 염증반응을 억제시키고, 교원질 유전자의 전사율을 감소시키거나 교원질 mRNA의 안정성을 감소시킴으로써 교원질의 양을 줄일 수 있다. 단 간염바이러스가 원인인 경우는 바이러스의 증식을 유발하므로 사용에 문제가 있다.

3) 프로스타글란딘

PGE₂는 IL-1이나 TGF- β 으로 자극된 교원질 유전자를 억제하고 PDGF에 의한 간성상세포의 증식효과를 감소시키며, 세포 내 cAMP를 증가시켜 교원질 유전자를 억제하고 세포 보호작용이 있다.

4) 세포 내 cAMP

PGE₂ 이외에도 인디에스테라제(phosphodiesterase) 억제제나 β -아드레날린 작용제(β -adrenergic agonist) 등이 세포 내 cAMP를 증가시켜 교원질 유전자를 억제한다.

5) 콜치신(colchicine)

교원질은 세포 내에서 미세소관을 통해 세포 외로 분비되는데 콜치신은 미세소관에 영향을 주어 교원질의 분비를 억제하고 교환결합과정도 억제하여 collagenase에 의한 파괴를 유발할 수 있다. 이외에 collagenase의 생산을 증가시키고 단핵구나 다핵구의 기능을 억제하는 작용도 한다.

6) Prolyl hydroxylase inhibitor

전구교원질이 형성된 후 lysyl 또는 prolyl residues hydro-

xylation 등의 전사 후 변형을 거치는데 이 과정을 방해함으로써 triple helix가 불안정하게 되어 쉽게 파괴되고, 분비에도 제한을 받는다.³⁵ 이에 속하는 제제로서 deferiprone, pyridine 2,4-dicarboxylic acid와 이의 부산물인 HOE077 등이 알려져 있다.

결 론

근래 바이러스학이나 면역학 분야의 연구방법과 더불어 간성상세포와 교원질 등과 같은 간섬유화 기전에 대한 연구가 국제적으로 활발하게 진행되고 있고 국내에서도 이를 전공으로 하는 연구자들이 점차 늘어나고 있다. 간세포 파괴에 의하여 활성화된 간성상세포는 급성 간질환과 같이 더 이상의 자극이 없는 경우에는 자연 사멸한다.³⁶ 만성 간질환과 같이 지속적인 자극이 있는 경우에도 현재 시행되고 있는 여러 가지 항섬유화제의 개발로 중요한 성인병 중 하나인 간경변으로의 진행을 억제할 수 있기를 기대한다.

참고문헌

1. Rojkind M, Giambrone M-A, Biempica L. Collagen types in normal and cirrhotic liver. *Gastroenterology* 1979;76:710-719.
2. Gressner AM, Bachem MG. Cellular sources of noncollagenous matrix proteins: role of fat storing cells in fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1990;10:30-46.
3. Bissel DM. Cell matrix interaction and hepatic fibrosis. *Prog Liver Dis* 1990;9:143-155.
4. Martinez-Hernandez A. The hepatic extracellular matrix. II. Electron immunohistochemical studies in rats with CCl₄ induced cirrhosis. *Lab Invest* 1985;53:166-186.
5. Maher JJ, Friedman SL, Roll FJ, Bissel DM. Immunolocalization of laminin in normal rat liver and biosynthesis of laminin by hepatic lipocytes in primary culture. *Gastroenterology* 1988;94:1053-1062.
6. Ramadori G, Knittel T, Odenthal M, Schwogler S, Neubauer K, Meyer zum Buschenfelde KH. Synthesis of cellular fibronectin by rat liver fat storing cells: regulation by cytokines. *Gastroenterology* 1992;103:1313-1321.
7. Schwogler S, Odenthal M, Meyer zum Buschenfelde KH, Ramadori G. Alternative splicing products of the tenascin gene distinguish rat liver fat storing cells from arterial smooth muscle cells and skin fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;16:768-775.
8. Schuppan D. Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver: collagens and glycoproteins. *Semin Liver Dis* 1990;10:1-10.
9. Pinnell SR, Martin GR. The crosslinking of the collagen and

- elastin: enzymatic conversion of lysine in peptide linkage to alleysine by an extract from bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968;61:708-714.
10. Petruska JA, Hodge AJ. A subunit model for the tropocollagen macromolecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 1964;51:871-876.
 11. Chojkier M. Therapeutic strategies of hepatic fibrosis. *Hepatology* 1988;8:176-182.
 12. Ruoslahti E, Pierschbacher MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrin. *Science* 1987;238:491-497.
 13. Martinez-Hernandez A, Amenta PS. The hepatic extracellular matrix II. Ontogenesis, regeneration and cirrhosis. *Virchows Archiv A Pathol Anat Histopathol* 1993;423:77-84.
 14. Wake K. "Sternzellen" in the liver: perisinusoidal cells with special reference to storage of vitamin A. *Am J Anat* 1971;132:429-462.
 15. Friedman SL. The cellular basis of hepatic fibrosis. *N Engl J Med* 1993;328:1828-1835.
 16. Bedossa P, Houghlum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen α_1 (I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a link to tissue fibrosis. *Hepatology* 1994;19:1262-1271.
 17. Gressner AM, Lahme B, Brenzel A. Molecular dissection of the mitogenic effect of hepatocytes on cultured hepatic stellate cells. *Hepatology* 1995;22:1507-1518.
 18. Chojkier M. Hepatocyte collagen production in vivo in normal rats. *J Clin Invest* 1986;78:333-339.
 19. Takahara T, Kojima T, Miyabayashi C. Collagen production in fat storing cells after CCl_4 intoxication in the rat: immunoelectron microscopic observation of type I, type III collagens, and prolyl hydroxylase. *Lab Invest* 1988;59:509-521.
 20. Friedman SL, Roll JF, Boyles J. Hepatic lipocytes: the principal collagen producing cells of normal rat liver. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:8681-8685.
 21. Gressner AM, Lotfi S, Gressner G, Lahme B. Identification and partial characterization of a hepatocyte derived factor promoting proliferation of cultured fat storing cells. *Hepatology* 1992;16:1250-1266.
 22. Matsuoka M, Pham N-T, Tsukamoto H. Differential effect of interleukin 1 alpha, tumor necrosis alpha, and transforming growth factor beta 1 on cell proliferation and collagen formation by cultured fat storing cells. *Liver* 1989;9:71-78.
 23. Bachem MG, Meyer D, Melchior R, Sell K-M, Gressner AM. Activation of rat liver perisinusoidal lipocytes by transforming growth factors derived from myofibroblast like cells: a potential mechanism of self perpetuation in liver fibrogenesis. *J Clin Invest* 1992;89:19-27.
 24. Castilla A, Prieto J, Fausto N. Transforming growth factor β_1 and α in chronic liver disease: Effect of interferon alfa therapy. *N Engl J Med* 1991;324:933-940.
 25. Pinzani M, Gesualdo L, Sabbah GM, Abboud HE. Effect of PDGF and other polypeptide mitogens on DNA synthesis and growth of cultured rat liver fat storing cells. *J Clin Invest* 1989;84:1786-1793.
 26. Solis-Herruzo JA, Brenner DA, Chojkier M. Tumor necrosis factor α inhibits collagen gene transcription and collagen synthesis in cultured human fibroblast. *J Biol Chem* 1988;263:5841-5845.
 27. Houghlum K, Brenner DA, Chojkier M. d- α -Tocopherol inhibits collagen α_1 (I) gene expression in cultured human fibroblast. *J Clin Invest* 1991;87:2230-2235.
 28. Houghlum K, Bedossa P, Chojkier M. TGF β and collagen α_1 (I) gene expression are increased in hepatic acinar zone 1 of rat with iron overload. *Am J Physiol* 1994;267:G908-G913.
 29. Lee KS, Buck M, Houghlum K, Chojkier M. Activation of hepatic stellate cells by TGF α and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myc expression. *J Clin Invest* 1995;96:2461-2468.
 30. Friedman SL, Wei S, Blaner WS. Retinol release by activated rat hepatic lipocytes: regulation by Kupffer cell conditioned medium and PDGF. *Am J Physiol* 1993;264:G947-G952.
 31. Davis BH, Coll D, Beno DWA. Retinoic acid suppresses the response to PDGF in human hepatic Ito cell like myofibroblasts. *Biochem J* 1993;294:785-791.
 32. Lee KS, Lee SJ, Park HJ, et al. Oxidative stress effect on the activation of hepatic stellate cells. *Yonsei Med J* 2001;42:1-8.
 33. Chojkier M, Houghlum K, Lee KS, Buck M. Long- and short-term D-alpha-tocopherol supplementation inhibits liver collagen alpha1 (I) gene expression. *Am J Physiol* 1998;275:G1480-G1485.
 34. Lee KS, Cottam HB, Houghlum K, Wasson DB, Carson D, Chojkier M. Pentoxifylline blocks hepatic stellate cell activation independently of phosphodiesterase inhibitory activity. *Am J Physiol* 1997;273:G1094-G1100.
 35. Hanauske-Abel HM. Prolyl 4 hydroxylase, a target enzyme for drug development: design of suppressive agents and the *in vitro* effects of inhibitors and proinhibitors. *J Hepatol* 1991;13(suppl 3):8-16.
 36. Lee JJ, Lee KS, Paik YH, et al. Apoptosis of hepatic stellate cells in CCl_4 induced acute liver injury of the rat: analysis of isolated hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2003;39:960-966.